

Thesis Title	A Systematic Investigation of the Exsheathment and Midgut Penetration of Nocturnally Subperiodic (NSP) <i>Brugia malayi</i> Microfilariae in a Refractory Vector, <i>Aedes aegypti</i> (Thailand Strain)	
Author	Ms. Nuchpicha Intakhan	
Degree	Master of Science (Parasitology)	
Thesis Advisory Committee	Assoc. Prof. Dr. Narissara Jariyapan	Advisor
	Dr. Atiporn Saeung	Co-advisor

ABSTRACT

Exsheathment and midgut invasion of nocturnally subperiodic *Brugia malayi* microfilariae were analyzed using light and scanning electron microscopy in a refractory vector, *Aedes aegypti* (Thailand strain). Results showed that exsheathed microfilariae represented approximately 1% of the total microfilaria midguts dissected at 5 min post-infected blood meal (PIBM). The percentage of exsheathed microfilariae found in midguts progressively increased to about 20%, 60%, 80%, 90%, and 100% at 1 h, 2-5 h, 6-12 h, 18-36 h, and 48 h PIBM, respectively. Importantly all the microfilariae penetrating the mosquito midguts were exsheathed. Midgut invasion by the exsheathed microfilariae was observed between 2 and 48 h PIBM. SEM analysis revealed sheathed microfilariae surrounded by small particles and maceration of the microfilarial sheath in the midguts, suggesting that the midguts

of the refractory mosquitoes might have protein(s) and/or enzyme(s) and/or factor(s) that induce and/or accelerate exsheathment. The microfilariae penetrated the internal face of the peritrophic matrix (PM) by their anterior part, and then the midgut epithelium before entering the hemocoel suggesting that PM was not a barrier against the microfilariae migrating towards the midgut. Melanized microfilariae were discovered in the hemocoel examined at 96 h PIBM suggesting that the refractory mosquitoes used melanization reactions against this parasite. This study provided evidence that *Ae. aegypti* (Thailand strain) has refractory mechanisms against *B. malayi* in both midgut and hemocoel.

ผู้เขียน

นางสาวนชพิชา อินตะจัน

ปริญา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ปรสิตวิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ. ดร. นริศรา จริยะพันธุ์ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
ดร. อติพร แซ่เอ็ง อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

การลอกคราบและการไชรกระเพาะอาหารของไมโครฟิลาเรียของพยาธิตัวกลม *Brugia malayi* ชนิด nocturnally subperiodic ในยุงลาย *Aedes aegypti* (สายพันธุ์ไทย) ที่ไม่เป็นพาหะนำโรคได้นำมาวิเคราะห์ผลโดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า พบไมโครฟิลาเรียที่ลอกคราบเพียงประมาณร้อยละ 1 ของไมโครฟิลาเรียทั้งหมดในกระเพาะอาหารที่ผ่าดู ณ เวลา 5 นาทีหลังจากการกินเลือดที่มีไมโครฟิลาเรีย ร้อยละของไมโครฟิลาเรียที่ลอกคราบในกระเพาะอาหารเพิ่มขึ้นเป็นประมาณ 20 60 80 90 และ 100 ณ เวลา 1 ชั่วโมง, 2-5 ชั่วโมง, 6-12 ชั่วโมง, 18-36 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมงหลังจากการกินเลือดที่มีไมโครฟิลาเรียตามลำดับ ที่สำคัญพบว่าไมโครฟิลาเรียทุกตัวที่ไชรผ่านกระเพาะอาหารของยุงเป็นไมโครฟิลาเรียที่ลอกคราบแล้ว การไชรกระเพาะอาหารโดยไมโครฟิลาเรียที่ลอกคราบพบอยู่ในช่วงเวลา 2-48 ชั่วโมงหลังจากการกินเลือดที่มีไมโครฟิลาเรีย การวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดเผยให้เห็นไมโครฟิลาเรียที่มีคราบถูกล้อมรอบไปด้วยอนุภาคขนาดเล็กและการเปื่อยยุ่ยของคราบภายในกระเพาะอาหาร แสดงให้เห็นว่ากระเพาะอาหารของยุงที่ไม่เป็นพาหะนำโรค อาจมีโปรตีน และ/หรือเอนไซม์ และ/หรือปัจจัยที่เหนียวหนืด และ/หรือ แรงให้เกิดการลอกคราบ ไมโครฟิลาเรียไชรผ่านผิวหนังในช่องเยื่อ peritrophic matrix (PM) โดยใช้ส่วนหน้าของลำตัว จากนั้นผ่านชั้น epithelium ของกระเพาะอาหาร ก่อนเข้าสู่ช่องว่างของลำตัว แสดงให้เห็นว่าเยื่อ peritrophic matrix ไม่เป็นด่านกั้นไมโครฟิลาเรียที่ไชรออกจากกระเพาะอาหาร ไมโครฟิลาเรียที่ถูกทำลายโดยกระบวนการ melanization พบในช่องว่างของลำตัว ณ เวลา 96 ชั่วโมงหลังจากการกินเลือดที่มีไมโครฟิลาเรีย แสดงให้เห็นว่ายุงที่ไม่เป็นพาหะนำโรคใช้ปฏิกิริยา melanization ใน

การต่อสู้กับปรสิตชนิดนี้ การศึกษาครั้งนี้เป็นหลักฐานแสดงให้เห็นว่ายุงลาย *Ae. aegypti* (สายพันธุ์ไทย) มีกลไกที่ทำให้ไม่เป็นพาหะนำพยาธิ *B. malayi* ทั้งในกระเพาะอาหารและช่องว่างของลำตัว